

Triagem virtual de candidatos a novos inibidores da enzima cruzaina de *Trypanosoma cruzi*

Mariana L. Souza (PG)^{1*}, Rafaela S. Ferreira (PG)¹
Gustavo H.G. Trossini (PG)^{1,3}, Adriano D. Andricopulo (PQ)¹

*mlaureano@ursa.ifsc.usp.br

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos, USP; ²Laboratório de Planejamento de Quimioterápicos Contra Endemias Negligenciadas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP

Palavras Chave: *Trypanosoma cruzi*, cruzaina, triagem virtual

Introdução

A doença de Chagas, uma infecção parasitária amplamente distribuída na América Latina, é um problema grave de saúde pública com consequências devastadoras em termos de morbidade e mortalidade humana¹. O arsenal terapêutico contra a doença é bastante limitado e insuficiente em todos os aspectos clínicos. Visando o desenvolvimento de novos agentes antichagásicos, diversas proteínas do parasita foram validadas como alvos terapêuticos. A enzima cruzaina, uma cisteíno-protease envolvida em todos os estágios de desenvolvimento e diferenciação do *Trypanosoma cruzi*, foi selecionada para os nossos estudos².

Um método bastante utilizado na identificação e otimização de inibidores enzimáticos é o planejamento de fármacos baseado na estrutura do receptor (*Structure Based Drug Design* - SBDD)³. Esta metodologia engloba diversas técnicas computacionais que utilizam estruturas cristalográficas de proteínas alvo, disponíveis no *Protein Data Bank* - PDB, para o planejamento racional de ligantes. Entre as técnicas modernas utilizadas, destacamos a triagem virtual, que possibilita identificar e selecionar novas moléculas candidatas a inibidores, a partir de grandes bases de dados de compostos. Estruturas da cruzaina em complexo com ligantes permitiram a aplicação de métodos de SBDD na seleção de uma nova série de candidatos a inibidores da enzima alvo.

Resultados e Discussão

Um conjunto de aproximadamente 3,4 milhões de compostos com características moleculares apropriadas para a descoberta de candidatos a compostos líderes (*lead-like*), comercialmente disponíveis, foi selecionado do banco de dados ZINC⁴. Os programas DOCK 3.5.54, GOLD 4.0.1 e Surflex foram empregados na triagem virtual utilizando como modelo a estrutura cristalográfica 3KKU, disponível no PDB. Os resultados do programa DOCK foram utilizados como um filtro para a seleção de compostos a serem docados pelos programas GOLD e Surflex, restringindo para cerca de 35.000 o número de moléculas avaliadas por estes programas (Figura 1). As 500 moléculas com melhor pontuação em cada programa foram analisadas visualmente, considerando as características dos subsítios da enzima, como a lipofilia do subsítio S2 e a presença de doadores e

aceptores de hidrogênio entre os subsítios S2 e S1 (Figura 2). Assim, compostos foram selecionados baseado em sua complementaridade multifuncional em relação ao sítio ativo, possíveis ligações de hidrogênio e sua flexibilidade.

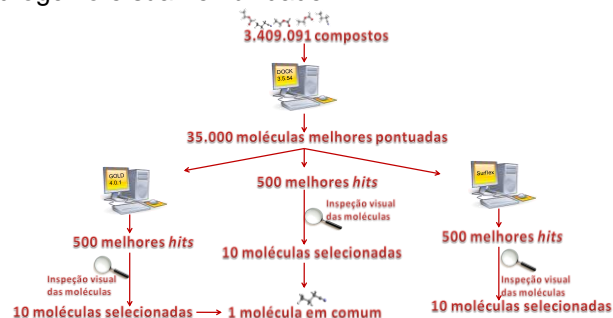


Figura 1. Esquema da triagem virtual de inibidores.

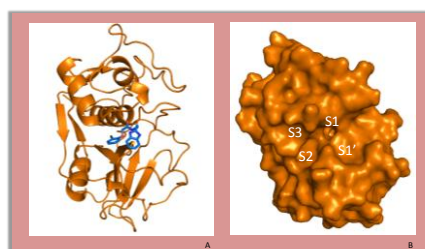


Figura 2. Estrutura da cruzaina (PDB 3KKU). A) Representação em cartoon. B) Subsítios da cruzaina

A partir destes critérios um conjunto de 30 moléculas foi selecionado após a triagem virtual e a análise visual para posterior estudo das interações intermoleculares e avaliação biológica. Entre as moléculas selecionadas uma se destaca, por apresentar boa pontuação por dois programas de docagem utilizados.

Conclusões

A partir da estratégia de triagem virtual baseada na estrutura do receptor foram selecionados 30 compostos que apresentam boa complementaridade estrutural em relação ao sítio de ligação da cruzaina de *T. cruzi*, e se caracterizam como potenciais candidatos a inibidores enzimáticos. Os compostos selecionados estão sendo avaliados em ensaios bioquímicos padrões para a determinação de potência, afinidade e do mecanismo de ação enzimático.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES

¹ WHO: <http://www.who.int/tdr/diseases>, acessada em Setembro 2009

² Cazzulo, J.J. *et al. Curr Pharm Des.*, 7, 1143-1156, 2001.

³ Andricopulo, A.D. *et al. Curr Top Med Chem.*, 9, 771-790, 2009.

⁴ ZINC: <http://zinc.docking.org>, acessada em Setembro 2010.